POLYMORPHISME ENZYMATIQUE
CHEZ *PLEUROTUS FERULAE* ET *PLEUROTUS NEBRODENSIS*

par M.C. BOISSELIER-DUBAYLE*

RÉSUMÉ. — La technique d'électrophorèse de zone en gel de polyacrylamide et la révélation de différentes activités enzymatiques (estérases, aminopeptidases, phosphatases) sur les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de différents isolats révèle de grandes variabilités et s'avère un moyen efficace de préciser le déterminisme génétique apparent de certaines isoenzymes. Pour les types *ferulae* et *nebrodensis* analysés ici, on remarquera la faible variabilité interne observée au sein de chaque individu *P. nebrodensis*.

SUMMARY. — Zone electrophoresis on polyacrylamide gel, followed by a detection of esterase, aminopeptidase and phosphatase activities, have been performed on homokaryons and «restored» dikaryons originating from different isolates. The zymograms exhibited variable patterns, indicating that this electrophoretical technique is a good tool for genetic determination of some isoenzymes. When *P. ferulae* and *P. nebrodensis* are analysed, a weak internal variability was observed for each *P. nebrodensis* isolate.

Les divers représentants des Pleurotes des Ombellifères (Basidiomycètes) sont habituellement répartis en deux ou trois groupes de niveaux taxonomiques incertains. Leurs basidiocarpes se développent sur les racines mortes de différentes Ombellifères après une croissance parasitaire (CAILLEUX & al., 1983).

Les groupes sont définis par la spécificité vis-à-vis des plantes-hôtes, leur répartition géographique, et par les particularités morphologiques suivantes :

Pleurotus eryngii Fr. ex D.C. Quélet est généralement inféodé au Panicaut (*Eryngium campestre*) et sa répartition recouvre sensiblement celle de ses hôtes (CAILLEUX & al., 1980). Morphologiquement, il est caractérisé par sa petite taille et la couleur souvent foncée de son basidiocarpe.

* M.N.H.N., Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue Buffon, 75005 Paris. — L.A. 257 et Laboratoire de Physiologie Cellulaire, Tour 53-43, Place Jussieu, 75230 Paris Cédex 05. — ERA 323.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE *(Cryptog., Mycol.)* TOME 4 (1983).



Pleurotus ferulae Lanzi se développe sur les racines des grandes Ombellifères du bassin méditerranéen (principalement *Ferula*). On le rencontre sur les côtes méditerranéennes et il a été signalé jusqu'en Israël (BINYAMINI, 1980). Il est souvent considéré comme simple forme du précédent mais s'en distingue morphologiquement par sa plus grande taille et la couleur toujours foncée de son basidiocarpe.

Pleurotus nebrodensis Inzenga est plutôt montagnard et propre aux grandes Ombellifères des zones subalpines de l'Europe (*Laserpitium*). Il a également été signalé sur *Diplotaenia* dans les montagnes du Sud de l'Iran (HEIM, 1960), sur *Ferulae* au Cachemire (WATLING & GREGORY, 1980) et a été récolté sur *Cachrys* en Sicile. Il est caractérisé par la grande taille, la couleur claire, presque blanche, de son basidiocarpe, et contrairement aux deux autres types précédents, il présente des lames anastomosées en réseau sur le stipe et une insertion souvent excentrée du piléus sur le stipe.

Notre étude s'insère dans les travaux de systématique réalisés sur les Pleurotes des Ombellifères : relations d'interfertilité et d'intercompatibilité (CAILLEUX & al., 1981), relations avec les plantes-hôtes (CAILLEUX & al., 1983), caryologie : méioses et stocks chromosomiques (SLEZEC, 1981 a, b), et estimation de la variabilité génétique de populations appartenant aux trois types de Pleurotes et d'origines géographiques différentes (BOISSELIER-DUBAYLE, 1981, 1983 a, b). Cette variabilité est abordée par l'étude du polymorphisme enzymatique, en utilisant la technique d'électrophorèse de zone en gel de polyacrylamide sur des extraits de protéines mycéliennes, suivie de la révélation de différentes activités enzymatiques (estérases, aminopeptidases, phosphatases).

L'analyse des protéines et des activités enzymatiques semble fournir des données intéressantes dans ce domaine. BAVENDAMM (1928) fut le premier à étudier des enzymes à des fins taxonomiques. Toutefois, la détermination d'enzymes dans des extraits bruts semble insuffisante pour donner des caractères fiables, et la technique d'électrophorèse est à présent très utilisée. Depuis les premiers travaux réalisés par CHANG & al. (1962) sur *Neurospora* et par CLARE (1963) sur *Pythium*, de nombreux travaux de systématique expérimentale ont été menés chez les champignons : parmi les plus récents, citons ceux de LÉGER (1976) sur *Peniophora*, GILL & ZENTMYER (1978), KAOSIRI & ZENTMYER (1980) sur *Phytophthora*, GEIGER & al. (1980) sur *Colletotrichum* et ceux de STIPES & al. (1982) sur *Endothia*. Les Basidiomycètes ont très rarement été soumis à ces techniques bien qu'ils offrent un matériel de choix par la possibilité de travailler sur des dicaryons «sauvages» («sauvages» = mycéliums issus de matériel récolté dans la nature), sur des homocaryons (mycéliums haploïdes issus de la germination de basidiospores), et sur des dicaryons «reconstitués» (mycéliums dicaryotiques issus de croisements entre homocaryons compatibles).

En vue d'établir des distances génétiques relatives basées sur le déterminisme génétique apparent de certaines isoenzymes, et après l'étude du type *eryngii* (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 a), nous rendons compte ici des résultats obtenus pour *P. ferulae* et *P. nebrodensis*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL

Nous avons analysé les isolats dont nous disposions au laboratoire. Pour *P. ferulae*, des basidiocarpes récoltés sur deux Férules différentes (*Ferula communis*) à Toulon (Sud de la France) en Octobre 1974 ont fourni l'isolat 291 issu d'un bouturage de fragment de chair et l'isolat 339 provenant d'un semis plurispores. Pour *P. nebrodensis*, les isolats 191 et 193 proviennent de deux basidiocarpes récoltés sur *Laserpitium latifolium* près d'Abriès (Queyras) en Septembre 1973. Ils sont issus de bouturages de fragments de chair et n'ayant pas plus de précision sur leur origine (même plante-hôte ou non), tous deux ont été analysés. L'isolat 491, issu de bouturage de fragment de chair, a été récolté près de Saint Bon (Savoie) sur *Laserpitium latifolium* en Septembre 1961. Une racine de *Cachrys ferulacea* infectée, récoltée dans les Monte Madonie (Sicile) en Mai 1979, a fourni l'isolat 585 issu du mycélium extrait de la racine de l'Ombellifère. Les isolats sont entretenus au laboratoire sur milieu Cristo-malt 2 %.

Après avoir obtenu la fructification, sur milieu synthétique (CAILLEUX & DIOP, 1976, 1978), de chacun de ces dicaryons «sauvages» de départ, l'isolement de basidiospores germées donne des homocaryons. Une dizaine d'homocaryons sont généralement analysés et les tableaux de confrontation (10 x 10) permettent de distinguer les groupes d'homocaryons compatibles qui conduisent à la formation des dicaryons «reconstitués». Les confrontations intra- et inter-types indiquent que tous ces isolats présentent des allèles d'incompatibilité différents. Sur milieu Cristo-malt, les confrontations inter-types présentent parfois des anses d'anastomoses plus rares que dans les confrontations intra-individu ou intra-type, et des confrontations négatives laissent présager d'une mauvaise dicaryotisation. Au sein de *P. nebrodensis*, elles mettent en évidence deux comportements distincts : les homocaryons de Sicile donnent un taux de confrontations à boucles abondantes moins important que celui observé lors des confrontations avec les homocaryons des Alpes. Cependant, les confrontations à boucles rares peuvent devenir pleinement positives sur le milieu à base de grains de céréales employé pour ensemencer le milieu pailleux de mise en fructification.

MÉTHODES

Culture, extraction et électrophorèse (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 a) : les mycéliums maintenus au laboratoire sur milieu Cristo-malt 2 % sont repiqués deux fois, à quinze jours d'intervalle, sur milieu gélosé Oddoux (ODDOUX, 1955), puis ensemencés sur milieu minéral liquide en boîtes de Roux. Après quatre semaines de croissance, les extraits de protéines solubles sont obtenus par broyage, centrifugation et dialyse. Pour les électrophorèses en tubes, sur gel de polyacrylamide (gel de prémigration 2,5 %; gel de migration 7 %), des quantités proches de protéines sont mises à migrer (150 μg de protéines détec-

tées par la méthode décrite par BRADFORD (1976). Les électrophorèses sont immédiatement suivies des révélations enzymatiques estérases, aminopeptidases et phosphatases.

Les zymogrammes estérases présentent généralement un nombre élevé de bandes dont la lecture est facilitée par l'utilisation simultanée des isomères α et β du naphtyl acétate qui mettent en évidence des formes enzymatiques ayant des affinités différentielles pour ces deux isomères. L'isomère α donne une coloration brune et l'isomère β une coloration rose des bandes. Afin de simplifier les résultats et de faciliter les interprétations, les profils sont divisés en trois zones caractéristiques : de faible migration, la zone A possède des bandes brunes; de migration intermédiaire, la zone B est caractérisée par des bandes roses; de forte migration, la zone C présente des bandes brunes. Les zymogrammes aminopeptidases présentent généralement peu de bandes : une bande de forte migration, très épaisse, et une ou deux bandes fines de plus faibles migrations. Les zymogrammes phosphatases extériorisent un polymorphisme intermédiaire, les bandes sont souvent épaisses et floues et la lecture des profils est parfois délicate.

Interprétation des résultats : les profils électrophorétiques observés sont transcrits en calculant les mobilités relatives des bandes par rapport à une bande de référence. L'étude des homocaryons permet une analyse génétique pour laquelle nous testons les différentes hypothèses de répartition homocaryotique (1/2-1/2) ou (1/4-1/4-1/4-1/4) en calculant la probabilité P d'observer une distribution au moins aussi dissymétrique. Les probabilités p(A) des différentes distributions possibles sont données par :

$$p(A) = \frac{x!}{x_1!\ x_2!\ \ldots\ x_m!}\ \frac{N!}{k_1!\ k_2!\ \ldots\ k_x!}\ \frac{1}{x}^{N}$$

où N est le nombre d'homocaryons analysés; x le nombre de types homocaryotiques observés; $k_1 \ldots k_x$ le nombre d'homocaryons appartenant à chacun de ces types ($k_1 + k_2 \ldots k_x = N$); et $x_1 \ldots x_m$ les nombres de fois où les nombres d'homocaryons de chacun des types sont identiques.

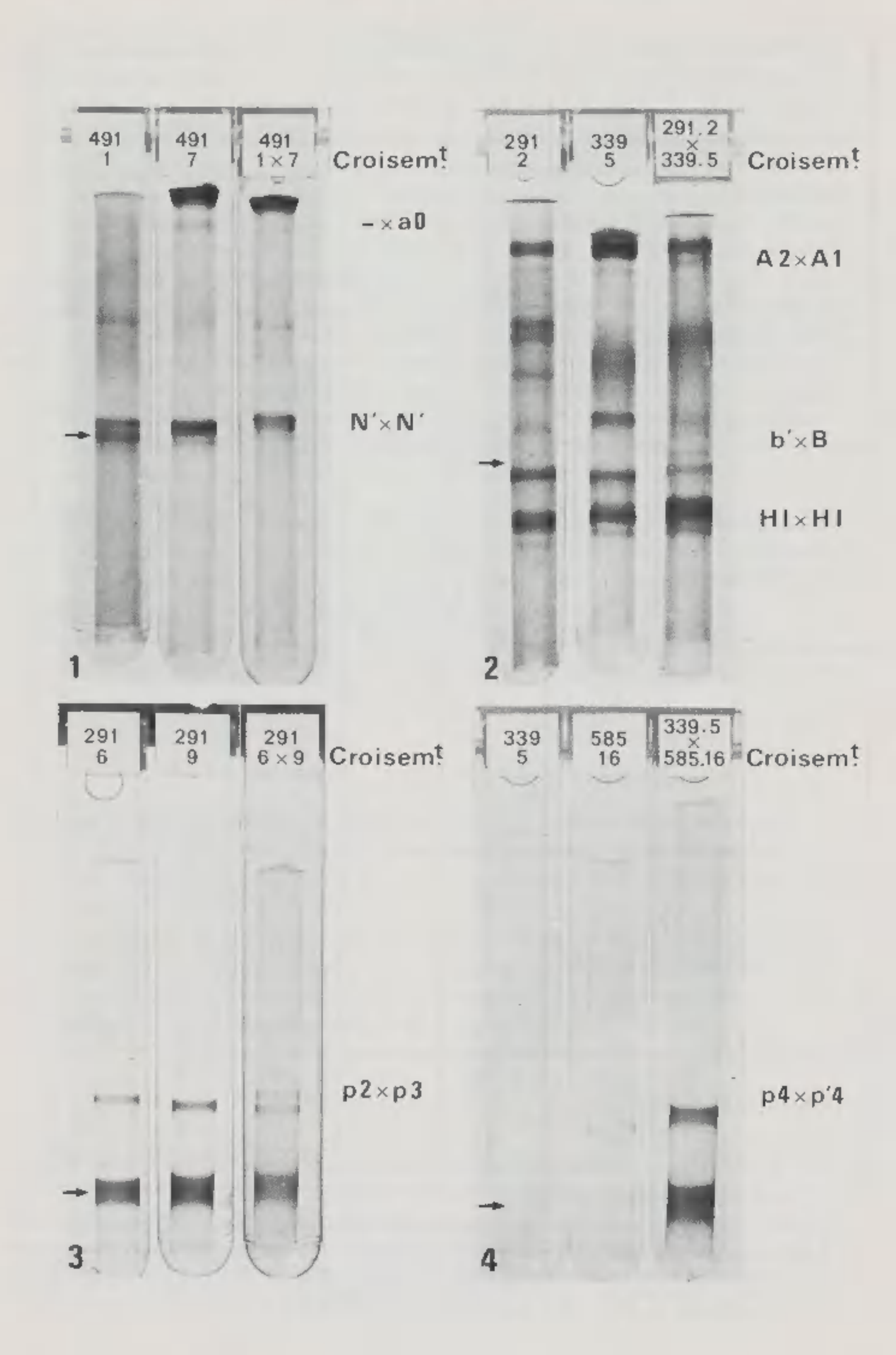
La probabilité P d'observer une distribution au moins aussi dissymétrique est la somme des probabilités d'apparition p(A) des répartitions plus dissymétriques ou au moins aussi dissymétrique que celle observée. La dissymétrie est appréciée par la distribution bi- ou polynomiale.

RÉSULTATS

Les profils des différents dicaryons «sauvages» de départ sont distincts mais, par analogie de mobilité, certaines bandes semblent communes à deux ou plusieurs isolats (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 b). L'analyse des homocaryons révèle des variabilités internes et les différents types de profils homocaryotiques observés sont regroupés dans le Tableau 1. Afin de tester si les bandes d'activité enzymatique révélées correspondent à l'expression d'un gène ou de deux gènes à

Activités enzymatiques	Types homoc.	*P. ferulae* 291	*P. ferulae* 339	*P. nebrodensis* Alpes 191-193	*P. nebrodensis* Alpes 491	*P. nebrodensis* Sicile 585
ESTERASES Zone A	–				7	8
	a0			12	2	
	A1		9	8		
	a1	5				
	A2	4				
P(1/2)		1,000	0,004*	0,503	0,180	0,008*
ESTERASES Zone B Isomère β	B		6			8
	b'	9	3			
	–			20	9	
P(1/2)		0,004*	0,509	0,000*	0,004*	0,008*
ESTERASES Zone B Isomère α	S	9	6	20	9	8
	F		3			
		0,004*	0,509	0,000*	0,004*	0,008*
	–	9	9			
	N					8
	N'			20	9	
P(1/2)		0,004*	0,004*	0,000*	0,004*	0,008*
ESTERASES Zone C	H'	2				
	H'I	3				
	HI	4	7			
	I		2			
	J					8
	–			20	9	
P(1/4 ou 1/2)		0,271	0,180	0,000*	0,004*	0,008*
AMINO-PEPTIDASES	p1				6	
	p2	3		20	3	
	p3	6				
	p4		9			
	p'4					6
	p2p'4					2
P(1/2)		0,509	0,004*	0,000*	0,509	0,289
PHOSPHATASES	α	9	5	20	5	
	β		4			
	α'				4	8
P(1/2)		0,004*	1,000	0,000*	1,000	0,008*

Tab. 1. — Répartition des homocaryons suivant les différentes mobilités de bandes (types homocaryotiques : –, a0, A1 . . .), pour trois activités enzymatiques (estérases : zones A, B, C; aminopeptidase; phosphatases); P (1/2 ou 1/4) = probabilité d'une répartition aléatoire sous l'hypothèse de l'action d'un gène à deux allèles ou de deux gènes. * = différence significative au seuil 5 %, – = pas d activité enzymatique révélée.


491
1
491
7
491
1×7
Croisemt
–×a0
N'×N'
1
291
2
339
5
291.2
×
339.5
Croisemt
A2×A1
b'×B
HI×HI
2
291
6
291
9
291
6×9
Croisemt
p2×p3
3
339
5
585
16
339.5
×
585.16
Croisemt
p4×p'4
4

un ou plusieurs allèles, nous avons effectué les tests de répartition homocaryotique et analysé des dicaryons «reconstitués» intra-individu, intra- et inter-types.

ESTÉRASES - ZONE A

P. ferulae : au niveau des dicaryons «sauvages» et sur l'étude des bandes de forte intensité, nous avons identifié deux types de profils électrophorétiques distincts (291:A2; 339:A1). Tous les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 339 sont de type A1 tandis que les homocaryons issus de 291 sont de deux types : profil A2 ou a1 (bande de faible intensité et de mobilité comparable à A1).

P. nebrodensis : les dicaryons «sauvages» 191 et 193 présentent une bande intense de mobilité A1 tandis que 491 et 585 ne révèlent aucune bande intense pour cette zone. Les homocaryons issus de 191 ou 193 sont de deux types : profil A1 ou a0 (bande de plus faible intensité et de migration quasiment nulle). Les homocaryons issus de 491 peuvent également être de deux types : profil a0 ou aucune activité (Figure 1, respectivement 491-7 et 491-1). Aucun homocaryon analysé pour 585 ne présente d'activité pour cette zone.

ESTÉRASES - ZONE ■ - ISOMERE β

P. ferulae : deux types de profils dicaryotiques «sauvages» ont été mis en évidence. Par analogie de mobilité, le profil 291 peut être assimilé au type b décrit chez *P. eryngii* (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 a), alors que celui de 339 est original (il présente au moins quatre bandes). Tous les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 291 présentent le profil dicaryotique «sauvage» tandis que les homocaryons issus de 339 sont de deux types : ils semblent correspondre aux profils B et b observés chez *P. eryngii*. Cependant, si les analyses des différents croisements intra- et inter-types confirment la similitude du type B chez *P. eryngii* et *P. ferulae*, elles mettent en évidence la dissemblance

Fig. 1 ■ 6 : électrophorèses en tubes de dicaryons «reconstitués» et de leurs homocaryons constitutifs, représentation de certains allèles identifiés (→ = bande de référence servant au calcul des mobilités relatives).

Fig. 1. — Révélation estérases, croisement intra-individu (*P. nebrodensis* Alpes). Zone A : le dicaryon issu d'un croisement «pas d'activité» (491-1) x a0 (491-7) présente un profil a0. Zone B, isomère α : les homocaryons et le dicaryon possèdent la bande N'.

Fig. 2. — Révélation estérases, croisement intra-type (*P. ferulae*). Zone A : le dicaryon issu d'un croisement A2 (291-2) x A1 (339-5) présente les deux bandes correspondantes. Zone B, isomère β : le dicaryon issu d'un croisement b' (291-2) x B (339-5) présente au moins quatre bandes. Zone C : les homocaryons et le dicaryon présentent le profil H1.

Fig. 3. — Révélation aminopeptidases, croisement intra-individu (*P. ferulae*). Le dicaryon issu d'un croisement p2 (291-6) x p3 (291-9) présente les deux bandes correspondantes.

Fig. 4. — Révélation aminopeptidases, croisement inter-types (*P. ferulae* x *P. nebrodensis*). Le dicaryon issu d'un croisement p4 (339-5) x p'4 (585-16) présente deux bandes.

des types b (b et b'). Les croisements B x b' donnent un profil similaire à celui du dicaryon «sauvage» 339 (Figure 2, 291-2 = b', 339-5 = B).

P. nebrodensis : le dicaryon «sauvage» venant de la Sicile (585) montre un profil semblable au type B, tandis que les individus originaires des Alpes ne présentent qu'une bande rose (la bande de référence) (Figure 1). Aucune variabilité homocaryotique n'a été mise en évidence.

ESTÉRASES - ZONE B - ISOMERE α

P. ferulae : les différents mycéliums analysés présentent généralement une bande brune de mobilité à peine supérieure à la bande de référence et d'intensité moyenne. En plus de cette bande, le dicaryon «sauvage» 339 en révèle une seconde de mobilité plus forte, et l'analyse des homocaryons permet d'émettre l'hypothèse d'un système monomérique de type Fast-Slow.

P. nebrodensis : tous les dicaryons «sauvages», les homocaryons et les dicaryons «reconstitués» analysés présentent une bande brune intermédiaire aux bandes roses. Celle-ci a une mobilité distincte chez les individus des Alpes (N'-Figure 1) et l'individu originaire de la Sicile (N).

ESTERASE - ZONE C

P. ferulae : les deux profils dicaryotiques «sauvages» révèlent des bandes communes et une bande surnuméraire apparaît chez 291. L'analyse des homocaryons a permis de déceler trois types de profils chez 291, deux chez 339. Le type HI, commun à 291 et 339 (Figure 2, 291-2 et 339-5), présente généralement deux bandes intenses (qui peuvent être parfois plus ou moins confondues). Les types IH' et H' ont été rencontrés chez 291, et le type I est observé parmi les homocaryons issus de 339.

P. nebrodensis : les isolats récoltés dans les Alpes ne présentent aucune activité pour cette zone, tant au niveau dicaryotique qu'au niveau homocaryotique (Figure 1). L'isolat 585 (Sicile) révèle à tous les niveaux le même profil (J).

AMINOPEPTIDASES

P. ferulae : les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 339 ont tous le même profil : une bande épaisse et généralement intense (bande de référence) et une bande fine de mobilité p4 : profil similaire à celui décrit chez *P. eryngii* pour la population de Tournus. Une bande de très faible intensité et de plus faible mobilité peut être décelée à l'état dicaryotique, elle ne se retrouve pas ou est très faiblement marquée au niveau homocaryotique et ne semble pas correspondre à un quelconque déterminisme génétique. Cependant, le dicaryon 291 présente deux bandes fines de mobilités p2 et p3, et les homocaryons n'en possèdent qu'une : p2 ou p3 (Figure 3, respectivement 291-6 et 291-9).

P. nebrodensis : lors des premières analyses sur les dicaryons «sauvages», les profils des isolats originaires des Alpes ont été jugés similaires : deux bandes

fines de mobilités p1 et p2. Cependant, tous les homocaryons et dicaryons «reconstitués» analysés pour 191 et 193 présentent une bande p2 alors que la bande p1, tout comme pour 339, ne semble pas correspondre à un quelconque déterminisme génétique. Par contre, les homocaryons de 491 sont de deux types : p1 ou p2.

Le dicaryon «sauvage» 585 aux bandes de mobilités comparables à p 2 (mais plus épaisse) et p4, contrairement aux résultats obtenus précédemment, peut donner des homocaryons présentant les deux bandes dicaryotiques «sauvages», ou des homocaryons ne révélant qu'une bande de mobilité p4. Les croisements intra- et inter-types confirment la similitude du type p2 bien qu'elle soit plus épaisse, mais mettent en évidence la dissemblance des types p4 : p4 et p'4 (Figure 4, respectivement 339-5 et 585-16).

PHOSPHATASES

P. ferulae : les profils dicaryotiques «sauvages» 291 et 339 semblent différents et l'analyse des homocaryons confirme cette dissemblance. Tandis que

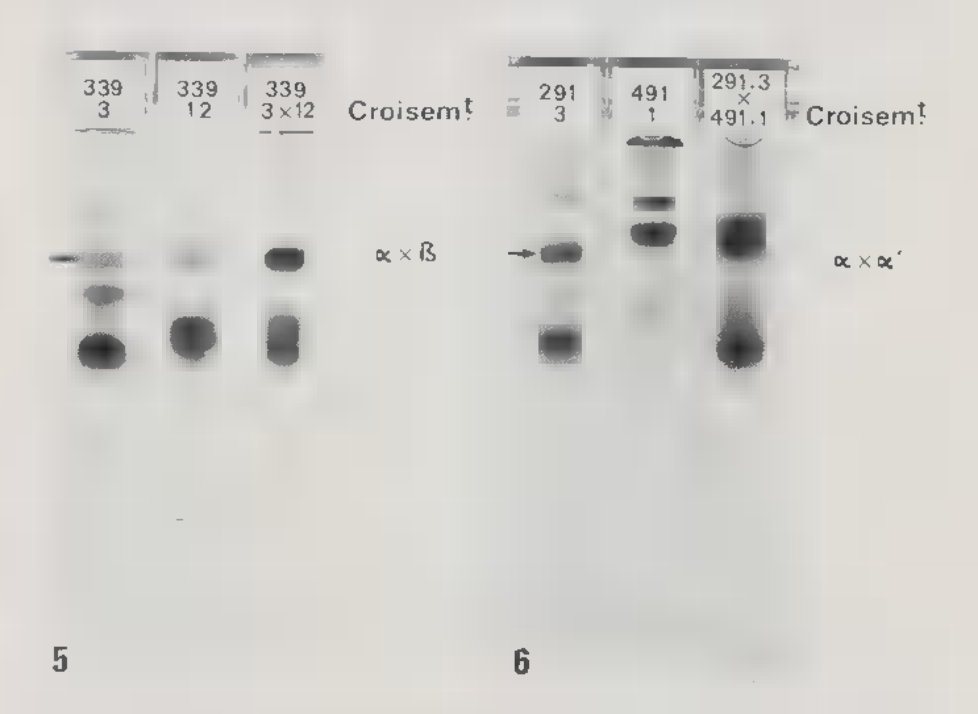


Fig. 5. — Révélation phosphatases, croisement intra-individu (*P. ferulae*). Le dicaryon issu d'un croisement α (339-3) x β (339-12) présente le cumul des bandes de fortes migrations.

Fig. 6. — Révélation phosphatases, croisement inter-types (*P. ferulae* x *P. nebrodensis*). Le dicaryon issu d'un croisement α (291-3) x α' (491-1) présente un cumul de bandes au niveau de la bande de référence.

les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 291 présentent tous le même profil α, on discerne les deux types de profils α et β décrits chez *P. eryngii* pour la population de Tournus (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983) parmi les homocaryons issus de 339 (Figure 5, respectivement 339-3 et 339-12).

P. nebrodensis : tous les profils dicaryotiques «sauvages» ont été jugés similaires dans un premier temps (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 b), et caractérisés par une bande de référence de mobilité plus faible (type α'). Cependant, l'analyse des homocaryons et des dicaryons «reconstitués» intra- et inter-types révèle que si tous les homocaryons issus de 585 sont bien de type α', ceux de 491 peuvent être soit de type α, soit de type α' (les dicaryons reconstitués α x α' présentent alors le cumul des bandes de référence - Figure 6), et que ceux issus de 191 et 193 sont tous de type α.

Le tableau 1, qui résume les répartitions homocaryotiques observées, permet, par le biais des tests de répartition 1/2 ou 1/4, de confirmer les hypothèses émises. L'analyse de dicaryons intra- et inter-types souligne l'homologie ou la dissemblance des bandes révélées, et l'ensemble de ce travail permet de définir les génotypes apparents des différents individus analysés (Tableau 2).

Types	Isolats	[illegible] Zone A	Zone B Isomère β	Zone B Isomère α	Zone [illegible]	AMINO--PEPTIDASES	PHOSPHA--TASES
P. eryngii	291 339	[illegible] [illegible]	[illegible] [illegible]	-/- [illegible] -/- [illegible]	[illegible] [illegible]	[illegible] p4/p4	α/α α/β
P. nebrodensis	191-193 491 585	[illegible] [illegible] [illegible]	-/- -/- [illegible]	[illegible] [illegible] [illegible]	-/- [illegible] [illegible]	p2/p2 [illegible] [illegible]	α/α α/α' α'/α'

Tab. 2. - Génotypes des dicaryons «sauvages» de départ, tels qu'on peut les définir par l'analyse électrophorétique d'homocaryons et de dicaryons «reconstitués», pour trois activités enzymatiques.

DISCUSSION

Trois observations se dégagent de ce travail :

– Chez les champignons, les travaux de systématique expérimentale abordés par le biais de l'électrophorèse, au niveau spécifique ou subspécifique, portent sur des souches non contrôlées génétiquement (exemple : cultures polyspermes étudiées pour les basidiomycètes du genre *Peniophora* - LÉGER, 1976). L'interprétation parfois erronée que peut induire une étude sur les seuls profils dicaryotiques «sauvages» (pour les phosphatases, par exemple) souligne l'intérêt d'utiliser du matériel homocaryotique et dicaryotique «reconstitué».

L'analyse des homocaryons et des dicaryons «reconstitués» révèle de grandes variabilités et s'avère un moyen efficace de préciser le déterminisme

génétique apparent de certaines isoenzymes. Les tests de répartition homocaryotique et l'analyse des dicaryons «reconstitués» intra-individu, intra- et inter-types indiquent que la plupart des bandes d'activité enzymatique semblent correspondre à l'expression d'un gène à plusieurs allèles. Cependant, les résultats obtenus pour la zone C des estérases au niveau de *P. ferulae*, et plus particulièrement au niveau de l'individu 291, laissent supposer l'action de deux gènes. Il en est de même pour les aminopeptidases révélées chez l'individu *P. nebrodensis* de Sicile (585) où un gène commun à tous nos isolats pourrait être responsable de l'expression (ou non) de la bande de mobilité p2, et où un second gène propre à cet individu serait responsable de la bande d'activité p'4.

Une faible variabilité est observée au sein de *P. nebrodensis*, elle ne se manifeste qu'au niveau de la zone A des estérases pour 191 et 193, et au niveau des aminopeptidases pour 585. Les premières conclusions tirées de l'étude électrophorétique des dicaryons «sauvages» de départ par l'estimation d'indices de similitude indiquent que, d'une manière générale, *P. nebrodensis* semble plus éloigné de *P. eryngii* et *P. ferulae*, assez proches entre eux, et mettent en évidence deux groupes parmi *P. nebrodensis*, l'un correspond aux Alpes (*Laserpitium*) et l'autre à la Sicile (*Cachrys*). Ces conclusions sont confirmées par les génotypes particuliers identifiés (pas d'activité pour la zone B - isomère β, et la zone C des estérases, au sein de *P. nebrodensis* des Alpes, allèle p'4 des aminopeptidases, propre à l'individu *P. nebrodensis* de Sicile), et par leurs facultés à former des anses d'anastomoses lors des confrontations intra- et inter-types.

BIBLIOGRAPHIE

BAVENDAMM W., 1928 — Uber das Vorkommen und Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* 38 : 257-276.

BINYAMINI N., 1980 — Succession of Israeli Agaric flora. *Nova Hedwigia* 32 : 185-198.

BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1981 — Étude du polymorphisme enzymatique chez les Pleurotes des Ombellifères. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* Sér. III, 292 : 1221-1226.

BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1983 a — Étude du polymorphisme enzymatique d'une population de Pleurotes des Ombellifères : *Pleurotus eryngii* (Tournus, France). *Can. J. Bot.* 61 : 458-465.

BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1983 b — Taxonomic significance of enzyme polymorphism among isolates of *Pleurotus* (Basidiomycetes) from Umbellifers. *Trans. Br. mycol. Soc.* 81 : 121-127.

BRADFORD M., 1976 — A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analit. Biochem.* 72 : 248.

CAILLEUX R. et DIOP A., 1976 — Recherches préliminaires sur la fructification en culture du *Pleurotus eryngii* (Fr. ex D.C.) Quélet. *Rev. de Mycol.* 40 : 365-388.

CAILLEUX R. et DIOP A., 1978 — La fructification du *Pleurotus eryngii* en conditions de culture non stériles et ses incidences pratiques. *Rev. de Mycol.* 42 : 1-11.

CAILLEUX R., DIOP A., SLEZEC A.M. et JOLY P., 1980 — Variabilité de la fructification du *Pleurotus eryngii* en culture. *Cryptog., Mycol.* 1 : 119-138.

CAILLEUX R., DIOP A. et JOLY P., 1981 — Relations d'interfertilité entre quelques représentants des Pleurotes des Ombellifères. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 97 : 97-124.

CAILLEUX R., CERCEAU-LARRIVAL M.Th., HAMEL J.L. et JOLY P., 1983 — Étude d'une station de *Pleurotus eryngii* DC ex Fr. : peuplements de Panicauts et peuplements de Pleurotes. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 99 : 157-202.

CHANG L.O., SRB A.M. and STEWARD F.C., 1962 — Electrophoretic separations of the soluble proteins of *Neurospora. Nature* (London) 193 : 756-759.

CLARE B.G., 1963 — Starch gel electrophoresis of proteins as an aid in identifying fungi. *Nature* (London) 200 : 803-804.

GEIGER J.P., LOURD M. et HUGUENIN B., 1980 — Les *Colletotrichum* agents d'Anthracnose en Côte d'Ivoire - II - Polymorphisme enzymatique dans une collection d'isolats de *Colletotrichum gloeosporioïdes* Penz. *Ann. Phytopathol.* 12 : 177-191.

GILL H.S. and ZENTMYER G.A., 1978 — Identification of *Phytophthora* species by disc electrophoresis. *Phytopathology* 68 : 163-167.

HEIM R., 1960 — Le Pleurote des Ombellifère en Iran. *Rev. de Mycol.* 25 : 242-247.

KAOSIRI R. and ZENTMYER G.A., 1980 — Protein, esterase and peroxydase patterns in the *Phytophthora palmivora* complex from Cacao. *Mycologia* 72 : 988-1000.

LÉGER J.C., 1976 — Analyse électrophorétique et taxonomie numérique dans le genre *Peniophora* Cooke (Basidiomycètes). *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 92 : 377-392.

ODDOUX L., 1955 — Recherches sur les myceliums secondaires des Homobasidiés en culture pure. Morphologie, cytologie, exigence alimentaire. Thèse Lyon, 346 p.

SLEZEC A.M., 1981 a — Méiose de l'Agaricale *Pleurotus eryngii* (DC ex Fr.) Quél. : description et détermination du nombre chromosomique par reconstitution tridimentionnelle des complexes synaptonématiques. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* Sér. III, 292 : 523-528.

SLEZEC A.M., 1981 b — A propos de deux types d'anomalies obtenues chez *Pleurotus eryngii* (D.C. ex Fr.). Quélet, en culture. *Cryptog., Mycol.* 2 : 245-255.

STIPES R.J., EMERT G.H. and BROWN R.D., Jr., 1982 — Differentiation of *Endothia gyrosa* and *Endothia parasitica* by disc electrophoresis of intramycelial enzymes and proteins. *Mycologia* 74 : 138-141.

WATLING R. and GREGORY N.M., 1980 — Larger fungi from Kashmir. *Nova Hedwigia* 32 : 493-564.